

Köpeklerde Ovaryum Üzerindeki Fonksiyonel Yapılar İle β -Karoten ve A-vitamini Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Ayhan BAŞTAN

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Ankara - TÜRKİYE

Örsan GÜNGÖR

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars - TÜRKİYE

Yunus ÇETİN

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Van - TÜRKİYE

Berrin SALMANOĞLU

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 10.04.2002

Özet: Bu çalışmanın amacı, köpeklerde kan β -karoten ve A-vitamini düzeyleriyle follikül (F) ve korpus luteum (CL) sayıları arasındaki ilişkinin araştırılmasıydı.

Bu amaçla, herhangi bir kriter gözönünde tutulmadan, ovariohysterektomi amacıyla Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Kliniğine getirilen 34 köpek materyal olarak kullanıldı. Operasyon öncesi her köpekten kan alındıktan sonra serumları çıkartılarak β -karoten ve A-vitamin düzeylerinin saptanması için laboratuvara gönderildi. Operasyon sonrası alınan ovaryumlar makroskopik olarak incelenerek, üzerlerindeki fonksiyonel yapıların (F ve CL) sayıları belirlendi. Ovaryumlarında herhangi bir fonksiyonel yapı olmayan köpekler çalışmaya alınmadı. Fonksiyonel yapı olanlar ise follikül ve korpus luteum bulunanlar şeklinde iki ana gruba ayrıldı. Her köpeğe ait ovaryumlar üzerinde saptanan CL sayılarına göre 1-3 adet (Grup I) ve 3'den fazla olanlar (Grup II), aynı şekilde F sayılarına göre de 1-3 adet (Grup III) ve 3'den fazla (Grup IV) diye herbiri 2'şer alt gruba bölündü.

Üç köpekte 1-3 (Grup I), 17 köpekte 3'den fazla sayıda CL (Grup II) belirlendi. Grup I, ve II'de ortalama β -karoten ve vit A düzeyleri sırasıyla $50,0 \pm 8,6$, $48,1 \pm 5,3$, $6,4 \pm 2,1$ ve $4,0 \pm 0,4$ $\mu\text{g/dl}$ olarak saptandı.

Yapılan incelemede 5 köpekte 1-3 adet (Grup III) ve 9 köpekte ise 3'den fazla sayıda (Grup IV) F saptandı. Grup III ve IV'de ise β -karoten ve vit A düzeyleri sırasıyla $47,6 \pm 10,7$, $60,7 \pm 6,5$, $3,4 \pm 0,8$ ve $5,5 \pm 0,8$ $\mu\text{g/dl}$ olarak belirlendi.

Sonuç olarak, köpeklerde vitamin A düzeyi ile F ve CL sayıları arasında bir ilişki kurulamamakla birlikte, β -karoten düzeyi ile F sayıları arasında pozitif korelasyon olduğu düşünülmektedir. Ancak β -karotenin CL sayısı üzerindeki etkilerinin sağlıklı olarak ortaya konabilmesi için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Sözcükler: β -karoten, A-vitamin, follikül, corpus luteum, köpek.

Determination of the Relationship between Beta-carotene and Vitamin A and Functional Structures on Ovaries in Bitches

Abstract: The purpose of this study was to evaluate the effects of β -carotene and vitamin-A blood levels on follicular development (F) and corpus luteum (CL) numbers in bitches.

Thirty-four randomly selected dogs brought to the Ankara University, Veterinary Faculty, Gynecology Department Clinic for ovariohysterectomy were used. The sera (separated from the dogs' blood samples) before surgery were sent to the laboratory to determine β -carotene and vitamin-A levels. The numbers of functional structures (F and CL) on the ovaries, obtained after surgery, were determined. Bitches without functional structures on the ovaries were not evaluated in this study. Bitches with functional structures on the ovaries were divided into two main groups.

One to 3 CL were detected on the ovaries of three bitches (Group I) and more than three on 17 bitches (Group II). The mean levels of β -carotene and vitamin-A in groups I and II were 50.0 ± 8.6 and 48.1 ± 5.3 , and 6.4 ± 2.1 and 4.0 ± 0.4 $\mu\text{g/dl}$, respectively.

One to 3 F were detected in five bitches (Group III) and more than three on nine bitches (Group IV). The mean levels of β -carotene and vitamin-A in groups III and IV were 47.6 ± 10.7 and 60.7 ± 6.5 , and 3.4 ± 0.8 and 5.5 ± 0.8 $\mu\text{g/dl}$, respectively.

In conclusion, although a relation between vitamin-A and follicle and CL numbers has not been found, β -carotene seems to have a positive correlation with follicle numbers in bitches. More detailed research should be carried out in order to determine the effects of β -carotene on CL numbers.

Key Words: β -carotene, vitamin-A, follicle, corpus luteum, bitch.

Giriş

Beta karotenin inek, koyun gibi hayvanlarda, reproduktif fonksiyonlar üzerine etkileri bilinmekle beraber, köpekler üzerine etkileri konusundaki bilgiler oldukça sınırlıdır. Günümüzde bu konuda yeni araştırmalar yapılmaktadır (1).

Karotinoidler olarak bilinen β -karoten ve vitamin A, immun sistemin düzenlenmesinde, ovaryum fonksiyonları ve implantasyonda önemli rol oynamaktadır. (2). Daha önceki yıllarda β -karoten etkinliğini A vitaminine dönüştürerek gösterdiği düşünülmekteydi. Oysa günümüzde yapılan çalışmalarda β -karoten ile vitamin A'nın bağımsız olarak reproduktif aktiviteyi etkilediği belirtilmektedir (3,4).

Beta karotenin çiftlik hayvanlarında reproduktif performansı nasıl artırdığı tam olarak açıklanamamakla birlikte etkisi, uterus ortamında yaptığı değişiklik ve reproduktif hormon salınım mekanizmasındaki rolüne bağlanmaktadır (5). Beta karoten, inek ve domuzda, luteal hücrelerden progesteron salınımını uyarmakta, bunun sonucu yetersiz progesteron salınımına bağlı olarak olası şekillenecek erken embriyonik ölüm riskini azaltmaktadır (6). İneklerde β -karoten yetersizliğinde, doğum sonrası uterus involüsyonunda gecikme, gebe kalma oranında düşme ve gebelik için gerekli tohumlama sayısında artış görülmektedir. Bunlara ilaveten postpartum ovaryum fonksiyonlarının yeniden başlamasında gecikme, sakin kızgınlık, ovulasyon gecikmesi, immun sistemde zayıflama, embriyonik ölüm, abortus ve zayıf buzağı sendromu görülme insidensini arttırdığı belirtilmektedir (7,8). Ayrıca, yetersiz β -karoten ile beslenen ineklerde yavru zarlarının atılamaması ve endometritis riski artmaktadır (4). Kalender (7), β -karoten bakımından yetersiz yemlerle beslenen ineklerde anovulasyon ve ovaryum kisti gibi fertilitte bozukluklarının, β -karotenin yeterince verilmesi ile gerilediğini belirtmektedir. Köpeklerde besinlerle alınan β -karotenin reproduktif organlar üzerine etkileri konusundaki bilgiler oldukça sınırlıdır.

Yapılan bir çalışmada proöstrüs başlarından itibaren β -karoten uygulanan köpeklerde diöstrüs döneminde CL'undan salınan progesteron düzeyinde artış olduğu belirlenmiştir (9). Beta-karoten anti-oksidatif etkisinden dolayı uterusu, implantasyon döneminde oksidatif hasara karşı da korumaktadır. Sonuç olarak implantasyon için uygun uterus ortamı sağlayarak gebeliğin devamını garanti altına almaktadır (9). Besinlerle alınan β -karotenin, A vitaminine dönüştürülmesi bağırsak mukozası tarafından yapılmaktadır (10). Köpeklerde β -karoten plazmadan endometrium ve luteal dokular tarafından absorbe edilmektedir. Kediler ise β -karoteni A vitaminine çeviremezler, bu nedenle A vitaminini besinlerle dışarıdan almak zorundadır (11,12). Yapılan bir çalışmada kedilere östrüs başlamadan 8 hafta öncesinden başlayarak östrüsa kadar β -karoten gıdalarla birlikte verilmiş ve östrüs döneminde plazma östrojen düzeyinin belirgin olarak arttığı görülmüştür. Aynı araştırmada diöstrüs döneminde gıdalarına β -karoten ilavesi yapılan kedilerde yapılmayanlara oranla progesteron düzeylerinde önemli farklılıklar saptanmıştır (13). Bu araştırma sonucunda araştırmacılar β -karotenin sadece progesteron yapımına değil, kedilerde aynı zamanda F gelişiminde de etkili olduğu sonucuna varmışlardır. Oysa köpeklerde β -karotenin plazma progesteron düzeyini artırdığı belirlenmiş olmasına rağmen F gelişimi üzerine etkileri henüz ortaya konulmuş değildir.

Can ve ark. (14), ineklerde A-vitamini yetmezliği sonucu görme bozuklukları, östrus sikluslarında düzensizlik, suböstrus, ovulasyon gecikmesi, ovaryum kisti, embriyonik ölüm ve abortus şekillenebileceğini belirtmektedirler.

Bu çalışmada amaç, henüz üzerinde yeterli araştırma yapılmamış olan köpeklerde kan β -karoten ve A-vitamini düzeylerinin F gelişimi ve CL sayıları üzerine etkilerini incelemektir.

Materyal ve Metot

Araştırmada, herhangi bir kriter gözönünde tutulmadan ovariohysterektomi amacıyla Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Kliniğine getirilen 34 köpek materyal olarak kullanıldı. Operasyon öncesi tüm köpeklerden kan alındı. Kan örnekleri ışıktan korunup, pıhtılaşmaları beklendikten sonra, 3000 devirde 10 dk. santrifüj edildi ve hemen β -karoten ve A-vitamin düzeylerinin saptanması için Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarına gönderildi.

Operasyon sonrası alınan ovaryumların Bursa ovarica'sı bir bistüri yardımı ile açılarak, ovaryumlar çıkarıldı. Daha sonra ovaryumlar makroskopik olarak incelenerek, üzerlerindeki fonksiyonel yapıların (CL ve F) sayıları belirlendi. Ovaryumlarında herhangi bir fonksiyonel yapı olmayan köpekler çalışmaya alınmadı. Fonksiyonel yapı olanlar ise follikül ve korpus luteum bulunanlar şeklinde iki ana gruba ayrıldı. Her köpeğe ait ovaryumlar üzerinde saptanan CL sayılarına göre 1-3 adet (Grup I) ve 3'den fazla olanlar (Grup II), aynı şekilde F sayılarına göre de 1-3 adet (Grup III) ve 3'den fazla (Grup IV) diye herbiri 2'şer alt gruba ayrıldı.

Kan örneklerindeki β -karoten ve A-vitamini düzeyleri Suzuki ve Katoh (15)'un kullandığı spektrofotometri yöntemi ile belirlendi. Elde edilen bulguların istatistiki değerlendirilmesi SPSS for Windows (version 10.0) programı ile korelasyon ve bağımsız örneklerde t testi kullanılarak yapıldı.

Bulgular

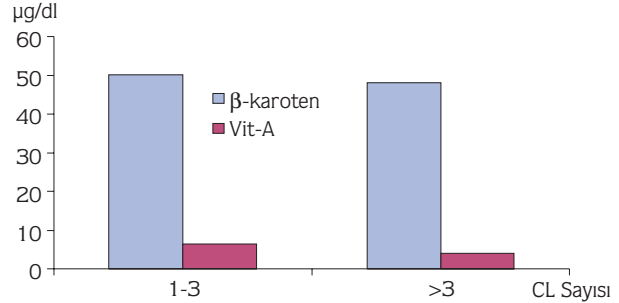
Otuzdört köpeğe ait 68 ovaryum üzerinde toplam 176 adet aktif yapı tesbit edildi. Bunlardan 116'sı CL (% 65,9), 60'ı ise (% 34,1) F idi.

Araştırmada 1-3 CL bulunan 3, 3'den fazla CL bulunan 17 adet köpek olduğu belirlendi. Tablo 1'de bu gruplarda ortalama β -karoten ve A-vitamini düzeyleri, Şekil 1'de ise CL sayısı ile β -karoten ve A-vitamini arasındaki ilişki görülmektedir.

Yapılan incelemede köpeklerin 5'inde 1-3 adet, 9'unda ise 3'den fazla sayıda F saptandı. Tablo 2'de bu gruplarda ortalama β -karoten ve A-vitamini düzeyleri, Şekil 2'de ise F sayısı ile β -karoten ve A-vitamini arasındaki ilişki görülmektedir.

Tablo 1. CL sayısına göre ortalama β -karoten ve A-vitamini düzeyleri.

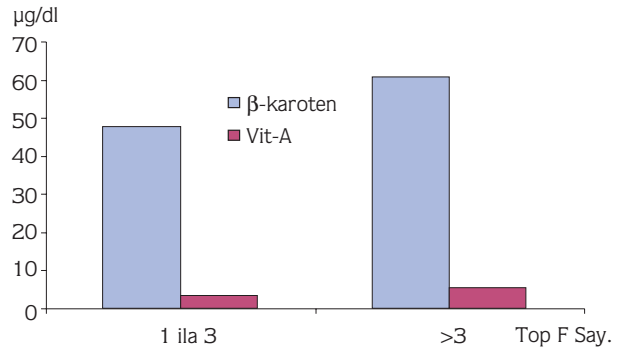
Toplam CL Sayısı	1-3 Grup I (n = 3)	>3 Grup II (n = 17)
β -KAROTEN ($\mu\text{g/dl}$)	50,0 \pm 8,6	48,14 \pm 5,3
VİT A ($\mu\text{g/dl}$)	6,4 \pm 2,1	4,0 \pm 0,4



Şekil 1. CL sayısı ile β -karoten ve A-vitamini arasındaki ilişki.

Tablo 2. F sayıları ile ortalama β -karoten ve A-vitamini düzeyleri.

Toplam F Sayısı	1 ila 3 Grup III (n = 5)	>3 Grup IV (n = 9)
β -KAROTEN ($\mu\text{g/dl}$)	47,6 \pm 10,7	60,7 \pm 6,5
VİT A ($\mu\text{g/dl}$)	3,4 \pm 0,8	5,56 \pm 0,8



Şekil 2. F sayısı ile β -karoten ve A-vitamini arasındaki ilişki.

Tartışma

Yapılan bir çok çalışma sonucunda β -karoten ve vitamin-A'nın bir çok evcil hayvanda reproduktif fonksiyonları üzerine önemli etkilerinin olduğu ortaya konulmakla beraber, köpekler üzerine olan etkileri net olarak anlaşılamamıştır. Köpeklerde β -karoten ve vitamin-A'nın, immun sistemin düzenlenmesinde ve implantasyonda etkili olduğu bilinmektedir (16). Ayrıca

köpeklerde β -karoten enjeksiyonları diöstrus evresinde P4 üretimini olumlu etkilemektedir. Bu etkisi nedeni ile luteal yetmezliğe bağlı embriyonik ölüm riskini azaltacağı belirtilmektedir. Köpekler üzerine bir diğer etkisi ise endometriumu oksidatif hasara karşı koruması olarak bildirilmektedir (13). Flatscher ve Aurich (1), daha önceki sikluslarında anovulasyon, uzayan proöstrus ve luteal yetmezlik görülen köpeklerde, β -karoten enjekte ettiklerini ve % 80 gebelik oranı saptadıklarını bildirmektedirler. Bunlara ilaveten aynı araştırmacılar endometritisli köpeklere antibiyotik tedavisine ek olarak yapılan β -karoten uygulamalarının da iyileşmeyi hızlandırdığını belirtmektedirler. Weng ve ark. (9), gıdalara eklenen β -karotenin CL sayısını artırdığını ve aynı zamanda P₄ yapımında artışa yol açtığını bildirmektedirler. Bu araştırmacılar plazma östradiol 17- β konsantrasyonunun etkilenmediğini bildirmekle beraber, ovulasyon öncesi dönemde β -karoten uygulaması yapılan köpeklerde östradiol düzeyinin daha yüksek olduğunu ve ovulasyon öncesi dönemde pik yaptığını saptamışlardır. Chew ve ark. (2), ise östrus öncesi dönemde gıdalara β -karoten eklenen kedilerde östrus döneminde plazma östradiol 17- β düzeyinde ve ovulasyon sonrası dönemde P₄ yapımını artırdığını belirtmektedirler. Aynı araştırmacılar kedilerde β -karotenin üremeye ilgili fonksiyonlarda önemli rollerinin olduğunu açıklamaktadırlar.

Bu araştırma sonucunda, 1-3 adet CL bulunanlarda β -karoten seviyesi $50,0 \pm 8,6$ $\mu\text{g}/\text{dl}$, 3'den fazla CL bulunan köpeklerde $48,14 \pm 5,3$ $\mu\text{g}/\text{dl}$ olarak saptandı. Grup I ve Grup II β -karoten düzeyi bakımından karşılaştırıldığında aralarında istatistiki yönden önemli bir farklılık yoktur ($P > 0,05$). Bu durum Weng ve ark. (9)'nın bulgularından farklılık taşımaktadır. Bu sonuç Grup I'deki materyal

sayısının azlığına bağlı olabilir. Daha tutarlı sonuçların ortaya konulabilmesi için bu alanda yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Oysa β -karotenin F sayısı üzerine etkilerine bakacak olursak, araştırma sonucunda ovaryum üzerinde 1-3 adet F bulunanlarda $47,6 \pm 10,7$ $\mu\text{g}/\text{dl}$ iken 3'den fazla F saptananlarda $60,7 \pm 6,5$ olarak bulunmuştur. Grup III ve Grup IV arasında ise β -karoten düzeyi ve F sayısı bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark vardı ($P < 0,05$). Bu veri bize köpeklerde β -karoten düzeyi arttıkça ovaryum üzerinde F sayısının artacağını düşündürmektedir.

Salmanoğlu ve ark. (8), inekler üzerinde yaptıkları bir çalışmada A-vitamini yetmezliğinde metritis, düzensiz östrus ve suböstrus görölme oranında bir artış olduğunu ortaya koymuşlardır. Oysa köpeklerde A-vitamininin üremeye olan ilişkisi henüz tam olarak ortaya konulmuş değildir.

Sunulan çalışmada, köpeklerde A-vitamini düzeyi ile F sayısı ve CL sayıları arasındaki ilişki araştırılmaya çalışılmış, F ve CL sayıları arasında bir ilişki kurulamamıştır. Bulgulardan da görüleceği gibi, gruplar arasında A-vitamini düzeyleri farklılık göstermekle birlikte, bu farklılık istatistiksel anlamda önemli bulunmamıştır ($P > 0,05$). Bu sonuç bize A-vitamininin F ve CL sayıları üzerine etkilerinin net olarak anlaşılması için daha pek çok ve kapsamlı araştırmaların yapılması gerektiğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, köpeklerde serum β -karoten düzeyi ile F sayısı arasında pozitif korelasyon olduğu fikri düşünülmekle beraber, CL sayısı üzerindeki etkilerinin sağlıklı olarak ortaya konabilmesi için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynaklar

1. Flatscher, C., Aurich, J.E.: Effects of β -carotene on the ovarian and uterine cycle in the bitch. 32nd Conference on Physiology and Pathology of Reproduction p. 54. 18/19. February, Hannover, 1999.
2. Chew, B.P., Park, J.S., Weng, B.C., Wong, T.S., Hayek, M.G., Reinhart, G.A.: Dietary β -carotene absorption by blood plasma and leukocytes in domestic cats. J. Nutr., 2000; 130: 2322-2325.
3. Gerloff, B.J., Morrow, D.A.: Effect of nutrition on reproduction in dairy cattle. In: Current Therapy in Therigenology. Ed. Morrow, D.A. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 1986; 310-340.
4. Michal, J.J., Heirman, L.R., Wong, T.S., Chew, B.P., Frigg, M., Volker, L.: Modulatory effects of dietary beta-carotene on blood and mammary leukocyte function in periparturient dairy cows. J. Dairy Sci., 1994; 77: 1408-1421.
5. Buhi, W.C., Thatcher, M.J., Shille, V.M., Alvarez, I.M., Lannon, A.P., Johnson, J.: Synthesis of uterine endometrial proteins during early diestrus in the cyclic and pregnant dog and after estrogen and progesterone treatment. Biol. Reprod., 1992; 47: 326-336.
6. Jackson, P.S., Furr, B.J.A., Johnson, C.T.: Endocrine and ovarian changes in dairy cattle fed a low beta-carotene diet during an estrus synchronization regime. Res. Vet. Sci., 1981; 31: 377-383.

7. Kalender, H.: Beta karoten ve reproduksiyondaki önemi. Alınmıştır: Gebe ve gebe olmayan ineklerde ovaryum üzerindeki yapıların ölçümü, incelenmesi ve bazı kan değerleri arasındaki ilişkiler. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi 2000.
8. Salmanoğlu, R., Baştan, A., Salmanoğlu, B., Küplülü, Ş., Vural, R.: Çeşitli fertilité problemlili Holştayn ırkı ineklerde kan beta-karoten, retinol, glikoz ve kolesterol düzeyleri. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 1997; 44: 151-157.
9. Weng, B.C., Chew, J.S., Wong, T.S., Park, J.S., Kim, H.W., Lepine, A.J.: β -carotene uptake and changes in ovarian steroids and uterine proteins during the estrus cycle in the canine. J. Anim. Sci., 2000; 78: 1284-1290
10. Baker, H., Schor, S.M., Murphy, B.D., DeAngelis, B., Feingold, S., Frank, O.: Blood vitamin and choline concentrations in healthy domestic cats, dogs, and horses. Am. J. Vet. Res., 1986; 7: 1468-1471
11. Lowe, B., Markwell, P.J.: Differences between cats and dogs: a nutritional view. Anim. Tech., 1995; 46: 29-35.
12. Crissey, S.D., Swanson, J.A., Lintzenich, B.A., Brewer, B.A., Slifka, K.A.: Use of a raw meat-based diet or a dry kibble diet for sand cats (*Felis margarita*). J. Anim. Sci., 1997; 75: 2154-2160.
13. Chew, B.P., Weng, B.C., Kim, H.W., Wong, T.S., Park, J.S., Lepine, A.J.: Uptake of β -carotene by ovarian and uterine tissues and effects on steroidogenesis during the estrous cycle in cats. Am. J. Vet. Res., 2001; 62: 1063-1067.
14. Can, R., Yılmaz, K., Gül, Y.: İnfertil ineklerde plazma A vitamini ve Beta-karoten miktarları üzerinde bir çalışma. DOĞA Tr. Vet. Hay. D., 1986; 10: 18-23
15. Suzuki, J., Katoh, N.: A Simple and cheap methods for measuring serum vitamin-A in cattle using only a spectrophotometer. Jpn. J. Vet. Sci., 1990; 52: 1281-1283.
16. Weng, B.C., Chew, J.S., Park, J.S., Wong, T.S., Combs, R.L., Hayek, M.G., Reinhart, G.A.: β -carotene uptake by blood plasma and leukocytes in dogs. FASEB J., 1997; 10: 1046.